

## СЛУЧАЙ ПИРОПЛАЗМОЗА, ВЫЗВАННОГО *VABESIA ANNAE*, У КОШКИ

Д. Эритц, Г. Дерре.

**К**от европейской породы в возрасте двух лет был подвержен эхографическому исследованию, с помощью которого была установлена спленомегалия. Согласно курирующему его коллеге установлено, что животное живет в Марселе в частном доме с выходом в сад, в котором он часто совершает прогулки. В связи с этим он уже был подвергнут инфестации блохами и клещами. Каждые два месяца его подвергают обработке против эктопаразитов инсектицидным раствором типа spot on. При проведении анализа крови отмечается слабо выраженная регенеративная анемия, лейкоцитоз и гипербилирубинемия (табл. 1).

Тесты на быстрое выявление (на специальных плашках) вирусов: лейкоза (поиск антигенов), иммунодефицита кошек (FIV) и коронавируса кишечника оказались негативными.

### Клиническое обследование

В день консультации кот был апатичным и отказывался от еды. Клиническое обследование позволило установить бледность слизистых, тахикардию (частота работы сердца — 180 уд./мин.) и спленомегалию при пальпировании брюшной стенки.

Методом эхографического исследования подтверждена умеренная спленомегалия без видимых аномалий па-

ренхимы. Спленомегалия не исследовалась, потому что владелец отказался от проведения цитопункции. Дилатация желчного пузыря с наличием желчной грязи были выявлены. Остальные объемы исследования брюшной полости соответствовали норме.

### Диагностические предположения

На данном этапе диагностические предположения об анемии с проявлением гипербилирубинемии следующие:

- аутоиммунная гемолитическая анемия;
- дисиммунная гемолитическая анемия, ассоциирующаяся с инфекционным агентом (например, с гемобартеллезом);
- гемопатия со спленомегалией.

### Дополнительные исследования

Мазки крови были выполнены из капли крови, взятой из уха. В них отмечается умеренная анизокария эритроцитов. Каких-либо паразитов или валиков в эритроцитах не обнаружено. Однако, наконец, эти первые патогномичные признаки удалось выделить и уточнить в материале, посланном в ветеринарную лабораторию. Кроме того, было заказано проведение исследования на выявление персистенции гемобартелл у кошки методом генетиче-

Клиническая картина пироплазмоза у собаки и кошки часто становится все более нетипичной. Чтобы поставить окончательный диагноз, приходится прибегать к методам молекулярной биологии.

ской амплификации (ПЦР), а также проведение прямого теста Коомбса.

Результаты гемограммы подтверждают присутствие анемии (гемоглобин ниже 8 г/дл), макроцитарной (средний объем эритроцита [VGM]) выше 55fl), нормохромной (среднее содержание гемоглобина в корпускуле [ТСМН] составляет 13 и 17), гемолитической (ТСМН выше 17,5 пкг/л) и регенеративной (общее количество ретикулоцитов выше 80x10<sup>9</sup>/л) с ретикулоцитозом 10% (или 207x10<sup>9</sup>/л) (табл. 2).

Тест Коомбса выполняется в первую очередь и не поддается интерпретации, потому что во время его считывания происходит аутогемолиз. Через несколько дней тест повторили, и он оказался положительным в обнаружении IgG (1/2 048), средне-положительным в отношении IgM/С3 (1/32). Этот тест указывает на персистенцию антиэритроцитарных IgG в большом количестве на поверхности эритроцитов без доказательств, что это могут быть аутоантитела.

Исследование, проведенное через генетическую амплификацию (ПЦР) в соответствующую единицу времени на выявление персистенции *Mycoplasma haemofelis* и кондидат *Mycoplasma haemominutum* (новое название гемобартелл, классифицированных на данный момент в категорию микоплазм), оказалось негативным. В данном случае предполагалась гемолитическая аутоиммунная анемия. Тем не менее считывание мазков крови в ла-

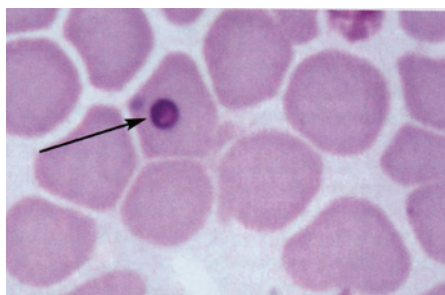
# • КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

боратории позволило выявить в эритроцитах включения. В этом случае можно было легко спутать варьирующие утолщения с тельцами Говела-Жоли, но во всяком случае они, кажется, всегда были круглыми. Эта картина была подтверждена наблюдениями при большем увеличении (фото 1, 2). Предположение было ориентировано на присутствие включений паразитарной природы, свидетельствующей о спорозоарах пироплазм (базезий малых размеров, или микробазезий) или тейлерий.

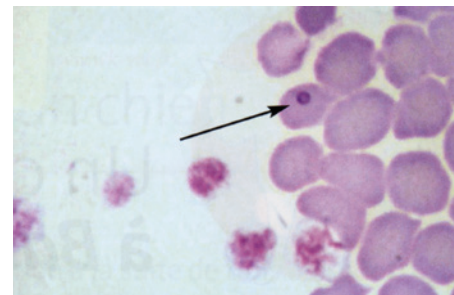
Поиск пироплазм с помощью ПЦР рода *Babesia* или *Theileria* позитивный. Была выделена чистая ДНК, которую подвергли сиквенсанализу. Сравнение результатов сиквенсанализа в генетическом банке (международный Генбанк всех данных сиквенсанализа генов) 120 базовых пар (bp) показало гомологию на 99% с таковыми пироплазмы под названием Spanish dog *Babesia* с *Babesia microti*. Секвенирование этого паразита великолепно осуществляют два сиквенсанализа bp 214 (опубликовано в Генбанке) *Babesia annae*, названной еще *Theileria annae* или *Babesia-like* в связи с большим сходством с пироплазмой *Babesia microti*, выявляемой обычно у грызунов (А.Т. Camacho, J.J. Gestal, F.J. Guitian et coll., 2001; А.Т. Camacho, E. Pallas, J.J. Gestal, et coll., 2003; E. Visee, 2008). Следовательно, речь идет о случае возникновения пироплазмоза у кошки вызванного микробазезией: *Babesia annae* (например, *Theileria annae*), ассоциирующейся с дисиммунной гемолитической анемией.

## ЛЕЧЕНИЕ И ОТДАЛЕННЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

Онрофлоксацин назначали перорально в дозе 5 мг/кг в сутки, а также преднизолон (1,0 мг/кг) с ожиданием результатов проведенных дополнительных методов исследования. Со слов владельцев общее состояние животного постепенно улучшалось. Тем не менее через месяц животное исчезло, и обрело полусвободный образ жизни, как это было ранее. Объективность оценки терапевтического вмешательства в связи с возможностью обнаружения нового патогена в крови у кота методом ПЦР оценить было уже невозможно.



**Фото 1.** Мазок крови, полученный от кошки, окрашенный по методу Попенгейма, х 100. Наличие празитарных включений в эритроциты (стрелка) разного размера.



**Фото 2.** Мазок крови, полученный от кошки, окрашенный по методу Попенгейма, х 300 (вертикальный электронный). Картина кольца с включением паразита (стрелка) *Babesia annae*.

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Классификация пироплазм

Пироплазмозы, вызванные протозоарами – обязательными внутриклеточными паразитами, относящимися к роду *Babesia* или *Theileria*. Эти паразитарные инфекции передаются с помощью иксодового клеща, называемого еще твердый клещ.

Классификация имеет еще много противоречий (см. рис.). Ориентируясь на эти морфологические свойства, имеется возможность различать два типа пироплазм:

— пироплазмы большого размера (*Babesia canis*, *Babesia bovis* и т.д.);

— пироплазмы малого размера: *Babesia divergens*, *Babesia microti*, *Babesia gipsoni*, *Babesia conradae*, и т.д. и паразиты рода *Theileria*.

Классификация пироплазм малого размера не перестает эволюционировать. Среди них известны три вида с очень схожей морфологией: один вид калифорнийский (*B. conradae*), другой — азиатский (*B. gipson*), тогда как третий — *Babesia/Theileria annae*, еще иногда обнаруживаемая под названием Spanish dog *Babesia* в связи с тем, что ее впервые выделили у собаки, живущей в Испании (А.Т. Camacho, J.J. Gestal, F.J. Guitian et coll., 2001; А. Criada-Fornelio, М.А. Conzalez-del-Rio, А. Buling-Sarana et coll., 2003; А.Т. Garcia, 2006; К. Hartelt, Т. Rieker, R.M. Oehme et coll., 2007).

Эта микробазезия способна контаминировать собаку, кошку и лисицу (А.Т. Camacho, E. Pallas, J.J. Gestal et coll., 2003; А. Criada-Fornelio, М.А. Conzalez-del-Rio, А. Buling-Sarana et coll., 2003).

Представленный случай великолепно вписывается в морфологическое описание *B. annae*, подтвержденное методом секвенирования, которым располагает Генбанк. Клещ, являющийся потенциальным вектором *B. annae*, вероятно, относится к *Ixodes hexagonus*.

### Вариации клинической картины заболевания

До этого времени синдром пироплазмоза собак согласно классическому описанию проявляется гипертермией, гемоглобинурией, макроцитарной или гемолитической регенеративной, нормоцитарной анемиями, сопровождающимися также общей слабостью. В подавляющем числе случаев в описаниях фигурирует ассоциирующаяся или изолированная лейкопения и/или тромбоцитопения (E. Vise, 2008). Представленная клиническая картина заболевания кота соответствует этому обычному заболеванию. Тем не менее на протяжении нескольких лет клиническое проявление пироплазмоза собак становится все менее и менее типичным, что вызывает необходимость прибегать к применению исследования на молекулярном уровне. Простой микроскопический анализ, чтобы исключить в настоящее время заболевание пироплазмозом, считается уже недостаточным для обнаружения пироплазм в организме животного. Следовательно, исследование на молекулярном биологическом уровне – единственное решение на выявление персистенции пироплазм в больном организме животного (А. Criada-Fornelio, А. Martinez-Marcos, А. Buling-Sarana et coll., 2003; А. Criada-Fornelio, С. Rev-valeiron, А. Buling et coll., 2007; P.T. Matjila, A.L. Leisewitz, M.C. Oosthuizen et coll., 2008; E. Vise, 2008).

# КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

ТАБЛИЦА 1.

Результаты биохимических анализов (VetTest/Idex), полученные от нашего коллеги – ветеринарного врача

	Результаты	Норма
Мочевина	0,85 г/л	0,15 – 0,57
Щелочная фосфатаза	20 МЕ/л	23 – 212
АЛТ	128 МЕ/л	10 – 100
Амилаза	687 МЕ/л	400 – 2000
Билирубин	12 мг/л	0 – 1

ТАБЛИЦА 2.

Результаты гемограммы, полученные в ветеринарной лаборатории.

	Результаты	Норма
Эритроциты	2,07x10 <sup>6</sup> /мл	5 – 10
Гемоглобин	20МЕ/л	23 – 212
Гематокрит	13,1%	24 – 45
VGM	63fl	39 – 55
TSMH	21,9пкг	12,5 – 17,5
ССМН	34,5г/л	30,0 – 36,0
Лейкоциты	13720/мл	5500 – 10500
Сегментоядерные нейтрофилы	9330/мл	2500 – 12800
Эозинофилы	137/мл	<1000
Лимфоциты	2470/мл	2500 – 7000
Моноциты	1784/мл	0 – 1000
Тромбоциты	150 000/мл	300 000 – 800 000
Ретикулоциты	207000/мл	

VGM – средний объем эритроцита; TSMH – среднее корпускулярное содержание гемоглобина; ССМН – средняя корпускулярная концентрация гемоглобина.

## Понятие о специфичности хозяина

Такое понятие, как специфичность хозяина, не является абсолютным.

Несколько авторов недавно исключили этот стереотип понимания, как видовая специфичность пироплазм (A. Criada-Fornelio, A. Martinez-Marcos, A. Buling-Sarana et coll., 2003; A. Criada-Fornelio, C. Rev-valerion, A. Buling et coll., 2007; D.A. Fritz, 2008; P.T. Matjila, A.L. Leisewitz, M.C. Oosthuizen et coll., 2008).

Эта информация подтверждается собственными исследованиями (7 не опубликованных) молекулярных свойств видов и подвидов Babesia/

Theileria проведенными на 166 собаках и 111 лошадях во Франции (с марта 2006, по март 2008-го). В результате мы могли показать, прибегнув к помощи сиквенс-анализа, что около 20% заболеваний пироплазмозом было вызвано Theileria equi, и 10% лошадей, больных пироплазмозом, были заражены возбудителем Babesia canis canis. Это было подтверждено несколькими авторами (A. Criada-Fornelio, A. Martinez-Marcos, A. Buling-Sarana et coll., 2003; A. Criada-Fornelio, C. Rev-valerion, A. Buling et coll., 2007; D.A. Fritz, 2008; P.T. Matjila, A.L. Leisewitz, M.C. Oosthuizen et coll., 2008). Что касается кошки, то в отношении представителей данного вида данные носят ограниченный характер, но имеется возможность контаминации через определенные штаммы Babesia canis была принята к сведению, что и вызвало необходимость выделить новый вид названный B. canis subsp. presentii (G. Banet, M.J. Kenny, S. Tasker et coll., 2004; A. Criada-Fornelio, A. Martinez-Marcos, A. Buling-Sarana et coll., 2003). Векторы при этом остаются неясными, и, вероятно, остаются прежними для собаки, лисицы и др.

Выявление разных векторных инфекций у кошки отныне широко проводится.

В результате, если у кошки отмечают клинические признаки, свидетельствующие о пироплазмозе, то симптоматика (как и у всех других видов, страдающих векторными клещевыми заболеваниями), как, например, апатия, анорексия, неясного генеза лихорадка с различными биохимическими модификациями (гипорегенеративной или арегенеративной анемиями, иногда лейкопения или изолированная тромбоцитопения и т.д.) может быть также стертой.

## Понятие о множественной контаминации

Разные работы, выполненные по собаке, лошади и отныне по кошке, указывают на возникающую часто мультиконтаминацию (A. Criada-Fornelio, A. Martinez-Marcos, A. Buling-Sarana et coll., 2003; A. Criada-Fornelio, C. Rev-valerion, A. Buling et coll., 2007; P.T. Matjila, A.L. Leisewitz, M.C. Oosthuizen et coll., 2008). Это объясняется ассо-

циацией одной или нескольких патогенных бактерий или протозоаров, таких, как Erlichia, Anaplasma, Rickettsia, Neorickettsia, Babesia, Theileria, разные гемобртанеллы, классифицированные и причисленные отныне к Mycoplasma с M. Haemofelis, M. haemominutum, M. haemocanis. Это суждение основывается также на нескольких укусах клещами, относящимися к разным семействам и родам в течение определенного времени с последующей контаминацией и асимптоматическом носительстве, до того как накопление патогенных агентов и их размножение не спровоцируют появления клинических симптомов. Также возможно, что некоторые из этих коинфекций могут пенетрировать в организм за счет укуса одного клеща, потому что клещи часто являются носителями сразу нескольких патогенных агентов. Доказательством этой передачи также является идея в отношении географической локализации этих векторных заболеваний, ложно ограниченных вокруг Средиземноморья. В результате дисперсии мы имеем несколько сходных случаев обнаружения их на территории Франции.

## ЛЕЧЕНИЕ

При пироплазмозе собак, вызванном микробабезиями, некоторые авторы предлагают сочетанную терапию с одновременным введением перорально клиндамицина (25 мг/кг, два раза в день), метронидазол (15 мг/кг, два раза в день) и доксициклин (5 мг/кг два раза в день). Имидакарб в отдельных случаях остается основным лечением (K. Suzuki, H. Wakabayashi, M. Takahashi et coll., 2007; H.J. Vial, A. Corenflot, 2006). Сочетание клиндамицина с кинином было предложено также как атовакуон (Malagone, 30 мг/кг два раза в день в течение 7 – 10 дней перорально) и азиромидин (Zytromax, 10 мг/кг, перорально) (A. Matsuo, Y. Kochida, M. Kawahara et coll., 2004; H.J. Vial, A. Corenflot, 2006; R. Wulansari, A. Wijava, H. Ano et coll., 2003).

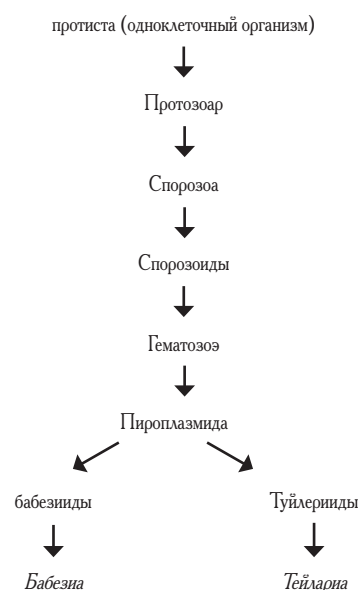
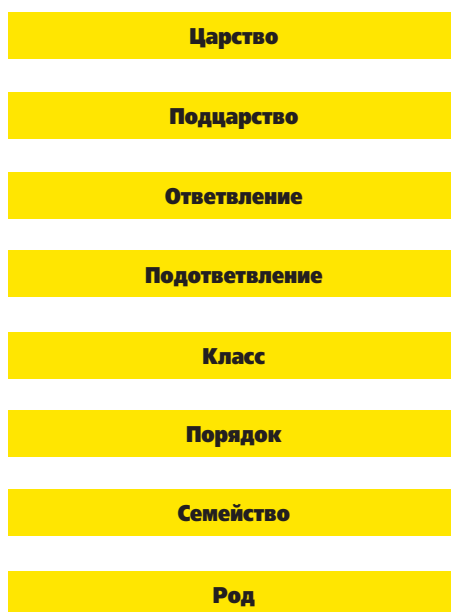
Авторы часто отмечают клиническое улучшение, но относительно определенная часть паразитов после проведе-

# КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

ния лечения персистирует (A. Matsui, Y. Kochida, M. Kawahara et coll., 2004). В этом случае можно предположить, что паразит количественно уменьшается и его невозможно обнаружить в мазках, но исследование, проводимое с помощью ПЦР, всегда дает положительную реакцию. Представление о хроническом носительстве с рецидивом клинических симптомов, вероятно, убедительно доказано (K. Suzuki, H. Wakabayashi, M. Takahashi et coll., 2007). Наконец, несколько авторов предлагают использовать лекарственные растения, но их потенциальная эффективность показана лишь *in vitro* (K. Kasahara, S. Nomurq, Subeki et coll., 2005; Subeki, H. Matsuura, M. Yamasaki et coll., 2004).

И наоборот имеется небольшое количество уточнений в отношении лечения кошек от пироплазмоза. Вероятно, имидакарб можно использовать при бабезиозе кошек. Во всяком случае в отношении этого вида животных схема лечения этим препаратом лабораторно не уточнена. Для *Babesia felis* (Южная Африка) бупарвакюон, онрофлоксацин, данофлоксацин будут неэффективны (B.L. Penzorn, B.D. Lewis, L.M. Lopez-Rebollar et coll., 2000). И, наоборот, ассоциация рифампицина с сульфадиазин-тримитопримом, вероятно, будет эффективной. Примаквин будет проявлять активность в дозе 0,5 мг/кг перорально или внутримышечно, зная, что дублирование этой дозы (например, 1,0 мг/кг) будет для пациента смертельной (F.T. Porgieter, 1981). Что касается собственного опыта, то, вероятно, специфического лечения в отношении *B. apae* у кошек не существует. Эффективность энрофлоксацина будет выверено отдельно. Назначение лечения в случае мультиконтаминации в основном осуществляются по отслеживанию улучшения состояния животного. Эти этапы лечения должны сопровождаться контролем с помощью ПЦР определенного числа копий, представленных в отношении каждого патогенного агента, чтобы наконец уточнить, является ли животное постоянным носителем, несмотря на его клиническое улучшение. Таким образом, лечение может быть адаптировано к каждому клиническому случаю.

**РИСУНОК**  
Классификация пироплазм



## НОВЫЕ ВОПРОСЫ

Накопленные знания, применяемые в этиопатогенезе, являются одной из причин догмы. Пироплазмоз вне всякого сомнения вызывается паразитами рода *Babesia* и *Theileria*. Термин «бабезиоза» применим для пироплазмоза, вызываемого бабезией (тейлериоз для *Theileria*). Новые данные в отношении специфичности вида, вероятно, частично объясняют терапевтические ошибки.

Следовательно, можно ли пироплазмоз собак, вызванный *Theileria equi*, лечить таким же способом, как и *Babesia canis canis*? Исследование, проводимое с помощью ПЦР, позволило открыть и подтвердить такое понятие, как вторичная мультиконтаминация, вызванная укусами клещей. В связи с этим не рекомендуется лечить лишь один бабезиоз или тейлериозы, но также следует учитывать ассоциацию других векторных заболеваний, вызываемых у одного и того же больного животного. Термин клинического выздоровления становится относительным в понимании биологической персистенции патогенных агентов, выявляемых молекулярно-биологическим методом. Являются ли эти носительства такими же безвред-

ными, как и возврат в нормальное клиническое состояние? Не будет ли проявления через длительный период времени почечной недостаточности по причине формирования депо аутоиммунных комплексов, а также нефротического синдрома и очень часто идиопатической природы? Какой схемы лечения следует придерживаться?

Рожденная недавно в лаборатории фундаментальных исследований молекулярная биология обеспечила условия повседневной диагностики и лечения пироплазмоза и становится одним из необходимых методов в будущем.

Как показывает эта статья, что касается пироплазмоза, правда вчерашнего дня не является единственной сегодня, потому что молекулярная биология открывает новые горизонты.

## Основные положения

1. Пироплазмоз кошек недостаточно известен и должен быть интегрирован в дифференциальную диагностику анемий, но также лейкопений и тромбоцитопений.

2. Географическое распределение микробабезий не ограничивается одним лишь окружением Средиземноморья.

3. Лечение пироплазмоза кошек нуждается в уточнении. +